第4卷第2期　　动 物 学 研 究　　Vol.4, No.2
1983年5月　　ZOOLOGICAL RESEARCH　　May., 1983

家蚕DNA诱导蓖麻蚕产生无洞茧*

张汉云、胡钧、杨连玺、叶文娟、黄生民

（中国科学院昆明动物研究所）

异源DNA诱导遗传性变异的研究，近年来受到广泛的重视。周光宇教授经过广泛的实地调查，认为远缘DNA片段在母本DNA复制过程中，有可能被重组而使子代出现变异。因而她提出了常规远缘杂交中，存在着DNA片段杂交的假设(周光宇等，1979)，我们曾用家蚕DNA或DNA蛋白，分别注入蓖赀蚕幼虫体内，结果后代发生了幼虫皮斑性状的改变（陈元霖等，1981）。本文报告我们用家蚕DNA诱导蓖麻蚕产生无洞茧的试验结果。

材料与方法

受体：蓖麻蚕（*Attacus cynthia rinica*），白血系统姬蚕品系（素白）。茧为蓖麻蚕正常茧形，一端开口（见照片左侧）。

供体：家蚕（*Bombyx mori*），幼虫具黑缟斑、虎斑、黄血等显性性状。茧为黄色椭圆形，具茧绉（见照片右侧）。

DNA制备：参照Marmur (1961) 方法，并经过改进。将蚕蛹在－20°C预冷后，加入少量SSC-EDTA溶液(0.15M NaCl，0.015M柠檬酸钠，0.01M乙二胺四乙酸钠)，快速匀浆、离心后，沉淀悬浮在10×SSC中，加入1／10体积25% SDS（十二烷基硫酸钠)，使最终浓度为2.5%。振荡后在60°C水浴中保温10分钟，再加入1/5体积5M $NaClO_4$和等体积氯仿—异戊醇（24：1），振荡30分钟后离心，收集水相，加入1.5倍体积冷酒精，用玻璃棒缠绕DNA丝状沉淀，经酒精梯度脱水和丙酮脱水后，再真空干燥得DNA粗品。经二苯胺显色反应测定，粗品中含DNA。

样品注射：上述DNA粗品溶于含0.005M乙二胺四乙酸钠的生理盐水溶液中，以玻璃注射器注入蓖麻蚕蛹内，每头蛹0.05毫升，含DNA60微克。以蓖麻蚕蛹DNA和不含有DNA的注射液分设两个对照组。

丝素蛋白氨基酸分析：将蚕茧浸泡在0.2%丝光皂及0.05% Na_2CO_3溶液中，以

该项研究得到云南省蚕科所杨鹤楼所长支持，本文承陆星垣教授审阅，修改，特此感谢。本文1982年4月27日收到。

1：100浴比煮沸三小时，再重复处理一次，脱去丝胶蛋白，充分水洗后吹干，置脂肪抽提器中用乙醚除去脂溶性物质，得到丝素蛋白。取丝素蛋白6毫克，置安瓿瓶中，加入0.6毫升6 N盐酸，充氮气后封管，放在110°C恒温箱中水解24小时，打开安瓶用氮气吹干，用日立835—50型氨基酸分析仪测定氨基酸组成。

结果与讨论

试验组和两个对照组各取蓖麻蚕蛹雌雄各25头，当代注入家蚕DNA的蓖麻蚕蛹，及这些蛹化成的蛾子，未发现任何变异。同试验组雌雄蛾进行交配，所产后代(F_1)，各组幼虫均未发现变异。然而注射家蚕DNA的试验组得到2707颗蓖麻蚕茧，其中发现4颗无洞茧，无洞茧的特征为，茧两端无洞，茧壳表面出现茧绉，类似家蚕茧（见照片中部）。注射蓖麻蚕蛹自身DNA的对照组，得蓖麻蚕茧2367颗，注射不含DNA的空白对照组得到蓖麻蚕茧3183颗，均为一端不封口的蓖麻蚕茧。

上述产生的无洞茧的蛹化蛾后，将一对雌雄蛾相互交配，另一雌蛾与同组非无洞茧的雄蛾进行交配，共得子二代（F_2）幼虫543头，其中486头幼虫结茧化蛹，未发现任何变异，也未出现无洞茧。

为了进一步查明，这种变异的无洞蓖麻蚕茧的丝质是否发生变异？我们将蓖麻蚕茧、家蚕茧及无洞蓖麻蚕茧，经除去丝胶蛋白后，对其三种丝素蛋白进行氨基酸组成分析。结果见附表。

附表：蓖麻蚕茧、家蚕茧及无洞蓖麻蚕茧丝素蛋白氨基酸组成比较(克/100克丝素)

	丝素样品	家蚕茧	蓖麻蚕茧	无洞蓖麻蚕茧
氨基酸名称	甘氨酸	34.84	25.83	24.14
	丙氨酸	27.54	42.34	39.10
	丝氨酸	10.30	6.12	5.85
	酪氨酸	9.53	11.16	10.49
	天门冬氨酸	1.82	5.08	4.71
	谷氨酸	1.60	1.19	1.12
	苏氨酸	0.92	0.51	0.49
	缬氨酸	2.64	0.68	0.68
	胱氨酸	1.16	1.38	1.98
	甲硫氨酸	0.08	/	0.06
	异亮氨酸	0.69	0.40	0.38
	亮氨酸	0.39	0.25	0.21
	苯丙氨酸	1.14	0.42	0.34
	赖氨酸	/	/	/
	组氨酸	0.30	2.22	2.05
	精氨酸	0.60	3.10	2.74
	脯氨酸	0.29	0.26	/

附表数据与文献报导（匡达人，1963；Alain，1979）相一致。结果表明，无洞蓖麻蚕茧的丝素蛋白与正常蓖麻蚕不封口茧的丝素蛋白相比较，它们的氨基酸组成基本相同。因为家蚕茧丝素蛋白和蓖麻蚕茧的丝素蛋白，都有很高的甘氨酸和丙氨酸含量，但家蚕丝素蛋白的甘氨酸含量高于丙氨酸，而蓖麻蚕丝素蛋白则丙氨酸含量高于甘氨酸，这是家蚕丝素蛋白区别于蓖麻蚕的主要特点。

蓖麻蚕产生无洞茧这一性状，在天然条件下确偶有发生。我们所用受体蓖麻蚕在云南省蚕桑研究所经过八年饲育，繁殖60个世代以上，观察了百万以上的个体，自然产生无洞茧的个体在万分之一以下，而且自然产生的无洞茧均为薄皮茧，茧形很不正常，更不可能在茧壳上出现茧绉。因此我们认为试验结果是可靠的。

用家蚕DNA诱导蓖麻蚕遗传性变异的研究，从1979年以来，我们共进行了七批试验。在三批试验中产生了无洞的蓖麻蚕茧，变异频率均为千分之二左右。第一批产生的无洞蓖麻蚕茧的蛹死亡未得后代，而第二批和本批试验产生无洞茧的蓖麻蚕蛹虽然得到了后代，但产生无洞茧这一性状未能遗传下来。我们认为可能是家蚕产生无洞茧的基因片段，并没有重组进蓖麻蚕的基因组中，因而在F_1代出现的这一变异性状，不能继续遗传下去。

参 考 文 献

周光宇、龚蓁、王自芬 1979 远缘杂交的分子基础——DNA 片段杂交假设的一个论证。遗传学报 第6卷，第4期。

陈元霖、郑子修、张汉云等 1981 蚕类DNA诱导遗传性变异的研究——家蚕DNA对蓖麻蚕的诱变作用。中国科学 1981年第9期

匡达人等 1963 几种蚕丝的比较研究。蚕业科学 第1卷第1期

Marmur 1961 A Procedure For The Isolation of Deoxyribenucleic Acid From Micro-organisms. *J. Mol. Biol.* 3:208.

Alain Fournier 1979 Quantitative Data On The *Bombyx mori* L. Silkworm, A review. *Biochimie* 61:283.

BOMBYX MORI DNA INDUCED THE HOLELESS COCOON IN *ATTACUS CYNTHIA RICINI*

Zhang Hanyun Wu Jun Yang Lianxi
Ye Wenjuan Huang Shengmin

(Kunming Institute of Zoology, Academia Sinica)

Bombyx mori DNA was injected into the body cavity of *Attacus cynthia ricini* pupae. It was found a small fraction of holeless cocoons appeared in the latter's progenies (F_1). Amino acid contents of *fibroin* of holeless cocoon, *B.* mori cocoon and *Attacus cynthia ricini* cocoon were compared. Amino acid contents of holeless cocoon fibroin seemed to be the same as that of *Attacus cynthia ricini* cocoon.